

0- 800632

*На правах рукописи*



**ВАГАПОВА ГУЗАЛИЯ ИЛЬГИЗОВНА**

**СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ КАТИОННЫХ ПАВ  
СО СТЕРИЧЕСКИ ЗАГРУЖЕННОЙ ФОСФОНIEВОЙ ГОЛОВНОЙ  
ГРУППОЙ**

02.00.04 – Физическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Казань – 2013

Работа выполнена в лаборатории Высокоорганизованных сред Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор  
Захарова Люция Ярулловна.

Официальные оппоненты:

доктор химических наук, профессор  
Горбачук Валерий Виленович,  
Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего  
профессионального образования  
«Казанский (Приволжский) федеральный  
университет», профессор кафедры  
физической химии.

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА КГУ



0000674658

доктор химических наук, доцент  
Яхваров Дмитрий Григорьевич,  
Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки Институт органической  
и физической химии им. А.Е. Арбузова  
Казанского научного центра РАН,  
старший научный сотрудник.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
профессионального образования «Ивановский  
государственный университет».

Защита состоится «19» июня 2013 года в 14<sup>30</sup> часов на заседании диссертационного совета Д 022.005.02 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук по адресу: г. Казань, ул. Арбузова, 8, конференц-зал Института.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук

Отзывы на автореферат (в 2<sup>х</sup> экземплярах) просим направлять по адресу: 420088, г. Казань, ул. Арбузова, 8, ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН

Автореферат разослан «17» мая 2013 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат химических наук

А.В. Горопчина

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы.** Супрамолекулярные системы на основе амфифильных соединений широко используются в различных областях практики, включая катализ, доставку лекарственных средств, создание нанокапсул и нанореакторов, синтез наночастиц и мезопористых материалов и т.д. Основой функциональной активности подобных систем является их способность к образованию агрегатов в растворе выше определенной концентрации, называемой критической концентрацией мицеллообразования (ККМ) и последующему связыванию практически полезных соединений, что приводит к изменению их локальных концентраций и свойств микроокружения. Особое внимание в биологических разработках привлекают катионные ПАВ, которые находят применение в качестве антимикробных агентов и переносчиков лекарственных средств благодаря высокому сродству головных групп к отрицательно заряженным биосубстанциям: фосфат-анионам нуклеиновых кислот, мембранным поверхностям и пр. Несмотря на то, что в литературе имеются примеры использования синтетических средств доставки биосубстратов, реальной альтернативы природным носителям еще не создано. Поэтому поиск новых строительных блоков, удовлетворяющих критериям современных нано- и биотехнологий (сочетание высокой эффективности с требованиями «зеленой химии»), является актуальной задачей. Ее успешное решение во многом зависит от наличия информационной базы, позволяющей осуществлять дизайн функциональных супрамолекулярных систем на основе корреляции «структура-свойство». Исследование фактора гидрофобности ПАВ широко представлено в литературе, тогда как варьирование природы головной группы ограничено, прежде всего, гомологическим рядом аммонийных ПАВ. В то же время исследования водных растворов катионных ПАВ со стерически загруженными головными группами, например, такими как трифенилфосфониевая (ТФФ), немногочисленны. Между тем, трифенилфосфониевый катион широко используется в качестве инструмента в биоэнергетике митохондрии для доставки биологически активных молекул, так как он легко проникает через липидные бислои клетки. Кроме того, ряд амфифильных фосфониевых солей обладает широким спектром антимикробной активности.

Практический потенциал супрамолекулярных систем может быть усилен за счет перехода от индивидуальных растворов ПАВ к смешанным композициям ПАВ-полимер. В литературе известны примеры синергетических эффектов в подобных системах, которые описаны, главным образом, для анионных ПАВ и незаряженных гидрофильных полимеров. Полимер-коллоидные комплексы на основе катионных ПАВ мало изучены за исключением пар катионные ПАВ-полианион. Поэтому получение новых экспериментальных данных и выявление закономерностей, описывающих структуру и свойства подобных бинарных систем, могут представлять фундаментальную и практическую значимость.

**Работа выполнена** в лаборатории Высокоорганизованных сред Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра РАН в рамках государственной бюджетной темы “Дизайн рецепторных и амфифильных макроциклических соединений и создание многофункциональных супрамолекулярных структур и наночастиц” (№ гос. регистрации 01201157530). Работа проведена при финансовой поддержке грантов РФФИ 09-03-00572-а “Биомиметические супрамолекулярные системы на основе амфифильных соединений и полимеров как наноразмерные контейнеры и катализаторы”; РФФИ 10-03-90416-Укр\_а “Конструирование нанореакторов с целью регулирования реакционной способности путем ковалентной и нековалентной функционализации амфифильных соединений”; РФФИ 12-03-97066 р\_поволжье\_а “Наноразмерные самоорганизующиеся системы с контролируемым структурно-фазовым поведением, обладающие каталитической, антикоррозионной и антимикробной активностью”; МК 6711.2012.3 “Комплексообразование

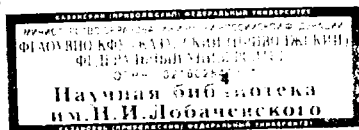
олиго- и полинуклеотидов с катионными амфифильными агентами: роль стехиометрических и кооперативных взаимодействий”; государственного контракта №2012-1.2.1-12-000-1004-027 “Новые высокоэффективные катализаторы реакций кросс-сочетания на основе наночастиц палладия, стабилизированных ионными жидкостями на основе амфифильных солей фосфония и имидазолия”; программы 9 ОХНМ РАН “Синтез новых биологически активных амфифильных соединений и формирование на их основе супрамолекулярных наноконтейнеров с контролируемыми функциями для солюбилизации и транспорта лекарственных препаратов”.

### **Научная новизна работы.**

2. Впервые показано, что алкилтрифенилфосфоний бромиды могут быть использованы в качестве:

3. Получены и охарактеризованы новые системы на основе фосфониевых ПАВ и полимеров (полиэтиленгликоль и полиэтиленимин), проявляющие синергетический эффект в процессах самоорганизации и катализа.

**Практическая значимость.** Сформированы супрамолекулярные системы на основе фосфониевых амфифилов и их комплексов с полимерами различной природы, обладающие низким порогом агрегации и имеющие размер в наномасштабном диапазоне. Показано, что полученные наносистемы проявляют высокую солубилизирующую способность в отношении органических соединений, не растворимых в воде. Кроме того, выявлена их функциональная активность в качестве биомиметических катализаторов, обладающих высокой субстратной специфичностью, действующих в мягких условиях в водных средах и при комнатной температуре для важных химических процессов: разложения экотоксикантов и реакции кросс-сочетания Сузуки, широко используемой для синтеза лекарственных препаратов, пестицидов и т.д. Разработана методика по оценке комплексообразования катионного фосфониевого ПАВ с синтетическим низкомолекулярным аналогом ДНК. Показана высокая комплексообразующая способность фосфониевых ПАВ в отношении олигонуклеотида, превышающая активность аммониевых аналогов.



1. Результаты определения агрегационных характеристик водных растворов фосфониевых амфилов различной гидрофобности и их бинарных комплексов с полиэтиленимином (ПЭИ) и полиэтиленгликолем (ПЭГ); сравнение способности к самоорганизации фосфониевых ПАВ с классическими катионными аналогами аммониевой серии; количественные характеристики агрегатов фосфониевых и аммониевых ПАВ: размеры, поверхностный и дзета-потенциал, степень связывания противоионов, солубилизационная емкость, гидродинамический диаметр.

2. Результаты оптимизации состава новых супрамолекулярных катализаторов на основе фосфониевых солей и их композиций с полимерами различной природы в реакциях гидролиза эфиров кислот фосфора и кросс-сочетания Сузуки.

3. Оценка влияния структуры катионных фосфониевых ПАВ на их связывание с олигонуклеотидом (степень связывания, размеры и соотношения компонентов, соответствующие максимальной степени связывания и перезарядке комплексов).

**Апробация работы.** Результаты диссертационного исследования докладывались и обсуждались на Всероссийской конференции молодых ученых (с международным участием) "Современные проблемы науки о полимерах" (Санкт-Петербург, 2009 г.); V International symposium "Design and synthesis of supramolecular architectures" (Казань, 2009 г.); Всероссийской конференции с элементами научной школы для молодежи "Актуальные проблемы органической химии" (Казань, 2010 г.); Всероссийской конференции "Структура и динамика молекулярных систем" (Йошкар-Ола, 2011 г.); Всероссийской школе-конференции "Макромолекулярные нанообъекты и полимерные нанокомпозиты" (Московская область, пансионат "Союз", 2010-2011 гг.); XI Международной конференции "Проблемы сольватации и комплексообразования в растворах" (Иваново, 2011 г.); Всероссийской молодежной конференции "Успехи химической физики" (Черноголовка, 2011 г.); I Всероссийском симпозиуме по поверхностно-активным веществам "От коллоидных систем к нанохимии" с международным участием (Казань, 2011 г.); Всероссийской молодежной конференции "Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем" (Казань, 2011 г.); Всероссийской молодежной конференции "Инновации в химии: достижения и перспективы" (Казань, 2011-2012 гг.); International congress on organic chemistry (Казань, 2011 г.); XXIII Симпозиуме "Современная химическая физика" (Туапсе, 2011 г.); Первой Всероссийской конференции по жидким кристаллам (Иваново, 2012 г.); Всероссийской молодежной конференции "Химия поверхности и нанотехнология" (Казань, 2012 г.); Международной молодежной конференции "Катализ в органическом синтезе" (Новочеркасск, 2012 г.).

**Публикации.** Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 5 статьях в журналах, рекомендованных ВАК РФ, в 4 рецензируемых сборниках и 16 тезисах докладов на конференциях.

**Объем и структура работы.** Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, выводов и списка литературы (220 ссылок на публикации отечественных и зарубежных авторов). Общий объем диссертации составляет 188 страниц, включает 19 таблиц, 93 рисунка и 8 схем.

**Личный вклад автора.** Экспериментальные данные, приведенные в диссертационной работе, получены автором лично или при его непосредственном участии. Автор выражает благодарность сотрудникам ИОФХ им. А.Е. Арбузова н.с. Валеевой Ф.Г., н.с. Гайнановой Г.А., н.с. Ибрагимовой А.Р. и зав. лаб. Захаровой Л.Я. за постоянное внимание и всестороннюю поддержку, проф. Галкиной И.В., зав. лаб. Милокову А.В. за предоставление амфифильных фосфониевых солей, с.н.с. Сякаеву В.В., зав. лаб. Латыпову Ш.К. за помощь в проведении ЯМР-экспериментов и обсуждении полученных результатов, зав. лаб. Ризванову

И.Х. за помощь в проведении эксперимента методом хроматомасс-спектрометрии и обсуждении полученных результатов.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Самоорганизация в индивидуальных водных растворах алкилтрифенилфосфоний бромидов

На рис. 1,2 приведены результаты исследования агрегации методами тензиометрии и кондуктометрии. Значения ККМ, полученные по точкам излома на графиках, достаточно хорошо согласуются между собой (табл.1).

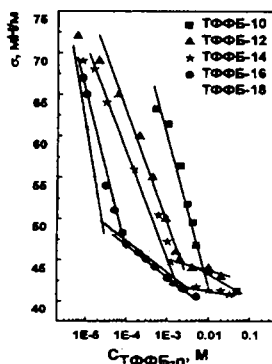


Рис. 1 – Зависимость поверхностного натяжения от концентрации ТФФБ-п; 25 °С.

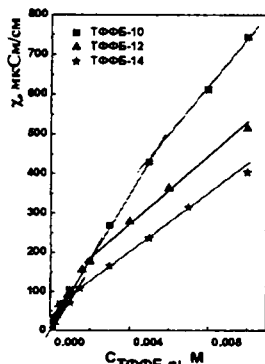


Рис. 2 – Зависимость удельной электропроводности от концентрации ТФФБ-п; 25°С.

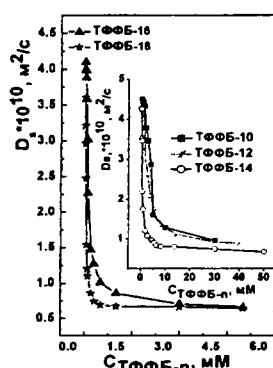


Рис. 3 – Зависимость коэффициента самодиффузии от концентрации ТФФБ-п; D₂O; 30°С.

На рис. 3 приведены данные ЯМР-самодиффузии, из которых видно, что коэффициенты самодиффузии ( $D_s$ ) уменьшаются практически линейно с увеличением концентрации ПАВ, вплоть до начала агрегации. В группах ТФФБ-10/ТФФБ-12/ТФФБ-14 и ТФФБ-16/ТФФБ-18 значения  $D_s$  незначительно отличаются в области низких концентраций, однако вблизи ККМ величины  $D_s$  и, следовательно, размеры агрегатов, различны. Нужно отметить, что значения ККМ полученные методами ЯМР-самодиффузии и тензиометрии, несколько различаются (табл. 1), что, вероятно, обусловлено высокой чувствительностью метода ЯМР, отражающего не только образование истинных мицелл, но и предмицеллярных агрегатов.

Для того, чтобы сделать предположение о морфологии агрегатов ТФФБ, был рассчитан критический параметр упаковки. Его значение составило  $\sim 1/3$ ; это граничное значение, которое допускает формирование сферических мицелл. Эти расчеты подтверждаются данными динамического светорассеяния, свидетельствующими, что для всех изученных систем наблюдается мономодальное распределение агрегатов по размерам, с гидродинамическим диаметром от 1.8 до 4.2 нм (рис. 4). На вставке рис. 4 в качестве примера показано значение дзета-потенциала для ТФФБ-16 (при концентрации выше ККМ). В гомологической серии алкилтрифенилфосфоний бромидов дзета-потенциал изменяется в интервале 60-65 мВ, причем его значение увеличивается с увеличением длины алкильного радикала. Получить надежные данные для низших гомологов ТФФБ ( $n=10$  и 8) не удалось, вероятно, из-за малых размеров их агрегатов. Степень связывания противоионов  $\beta$  мало зависит от концентрации ПАВ (рис. 5), однако наблюдается значительное влияние

гидрофобности ПАВ на параметр  $\beta$ . В ряду ТФФБ-10, ТФФБ-12 и ТФФБ-14 значение  $\beta$  варьируется от 0.4 до 0.55, что значительно меньше, чем для классических катионных ПАВ – алкилтриметиламмоний бромидов (ТМАБ-п). Между тем, дальнейший рост длины алкильной цепи приводит к нарушению этой закономерности. Для ТФФБ-16 и ТФФБ-18 значения  $\beta$  близки или превышают таковые для серии ТМАБ (рис. 5).

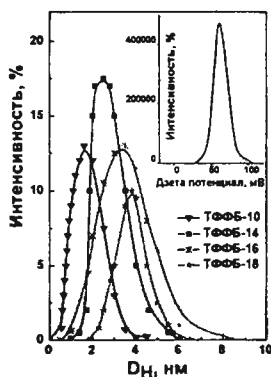


Рис. 4 – Гидродинамический диаметр водных растворов ТФФБ-п при концентрациях вблизи ККМ. На вставке: дзета-потенциал мицелл ТФФБ-16; 0.0015 М; 25 °С.

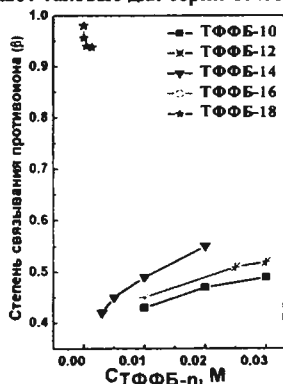


Рис. 5 – Степень связывания противоионов, полученная методом потенциометрии (бром-селективный электрод), для ТФФБ-п в зависимости от концентрации ПАВ; 25 °С.

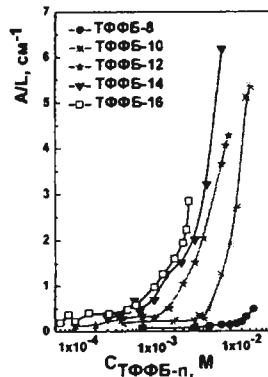


Рис. 6 – Зависимость оптической плотности Оранж ОТ (при 495 нм) от концентрации ТФФБ-п; 25 °С.

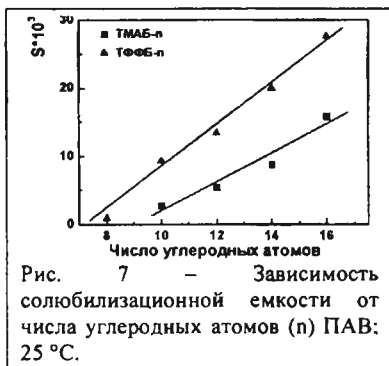


Рис. 7 – Зависимость сольubilизационной емкости от числа углеродных атомов (n) ПАВ; 25 °С.

тензиометрии, хорошо согласуются друг с другом. Количество вещества, сольubilизированного мицеллами, можно определить из уравнения:  $S=b/\epsilon$ , где  $S$  – сольubilизационная емкость, или число молей сольubilизированного вещества на число молей агрегированных молекул ПАВ;  $b$  – наклон линейного участка зависимостей в координатах  $A/L$  -  $C$ ;  $A$  – оптическая плотность,  $L$  – толщина кюветы (см),  $\epsilon$  – коэффициент

Весьма информативным методом, подтверждающим формирование мицеллоподобных агрегатов, является метод сольubilизации красителей. В нашем исследовании в качестве зонда был использован Оранж ОТ. Этот гидрофобный краситель не растворим в воде, однако способен сольubilизироваться внутренней частью прямых мицелл при концентрациях ПАВ выше ККМ. Это отражается в появлении поглощения в видимой части спектра при 495 нм. Оптическая плотность линейно возрастает выше ККМ (рис. 6), что отражает возрастание сольubilизации Оранж ОТ с увеличением количества мицелл. Значения ККМ (табл. 1), полученные методами сольubilизации и

экстинкции солюбилизатора ( $17\,400\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ ). Как видно, солюбилизационная емкость для серии ТФФБ-п в два раза больше, чем для соответствующих гомологов ТМАБ-п. Для обеих серий солюбилизация Оранж ОТ линейно возрастает с увеличением длины алкильной цепи (рис. 7) и определяется соотношением:

$$S = 0.0032 n - 0.024 \text{ (для ТФФБ-п);}$$

$$S = 0.0021 n - 0.020 \text{ (для ТМАБ-п).}$$

Таблица 1 – Значения ККМ, полученные методами тензиометрии, кондуктометрии, потенциометрии, ЯМР-самодиффузии и солюбилизации Оранж ОТ.

ПАВ	ККМ, мМ				
	Тензиометрия	Кондуктометрия	Потенциометрия	ЯМР	Солюбилизация Оранж ОТ
ТФФБ-8	32	30	-	-	27
ТФФБ-10	6.0	5.6	5.6	2.3	6.0
ТФФБ-12	2.0	1.7	-	1.6	2.0
ТФФБ-14	0.33	0.4	0.8	0.4	0.3
ТФФБ-16	0.1	0.1	0.15	0.06	0.1
ТФФБ-18	0.018	-	0.02	0.017	-

Можно предположить, что три фенильных фрагмента в головной группе ТФФБ способны образовывать дополнительный периферийный регион для солюбилизации органических зондов, что и обуславливает их эффективную солюбилизирующую способность.

Анализ полученных данных показал, что значения ККМ для ТФФБ-п и классических катионных ПАВ ТМАБ-п уменьшаются с увеличением числа углеродных атомов с параметром наклона  $\sim 0.3$  (рис. 8). Этот наклон является типичным для ионных ПАВ, однако, зависимость для ряда ТФФБ-п лежит значительно ниже, чем для ТМАБ-п.

Для определения поверхностного потенциала ( $\Psi$ ) агрегатов ТФФБ-п было проведено измерение значений  $pK_{a,obs}$  п-нитрофенола (ПНФ). Нейтральная форма ПНФ демонстрирует низкое сродство к мицелле, тогда как анионная форма, образующаяся в щелочной области pH, может эффективно связываться с катионными мицеллами благодаря электростатическим взаимодействиям. Это приводит к уменьшению наблюдаемого значения  $pK_a$  п-нитрофенола в катионных мицеллах.

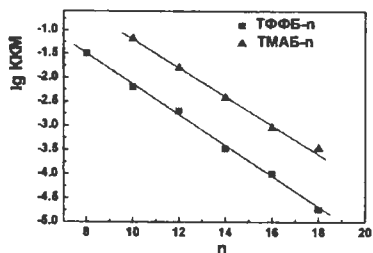


Рис. 8 – Зависимость  $\lg$  ККМ от числа атомов углерода в алкильном радикале ( $n$ ) для серий ТМАБ-п и ТФФБ-п.

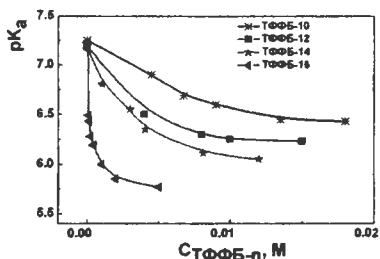


Рис. 9 – Концентрационная зависимость  $pK_a$  п-нитрофенола в мицеллярном растворе ТФФБ-п;  $25^\circ\text{C}$ .

Значение  $pK_{a,m}$  связано с поверхностным потенциалом через уравнение:  $pK_{a,m} = pK_{a,0} - F\psi/2.303 RT$ , где  $pK_{a,0}$  -  $pK_a$  зонда в отсутствие электростатического поля;  $F$  – константа



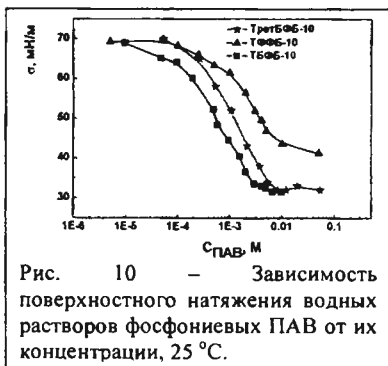
Фарадея. Значение  $pK_{a,0}$  может быть смоделировано путем использования неионных ПАВ или добавлением электролитов к растворам ионных ПАВ. На рис. 9 и в табл. 2 приведены значения  $\Delta pK_a$  и  $\Psi$ , полученные методом спектрофотометрии при различных значениях pH. Немного больший, чем у ряда ТМАБ, поверхностный потенциал наблюдали для всех гомологов ТФФБ. Полученные и рассчитанные данные показали, что значения поверхностного потенциала (табл. 2) для обоих рядов катионных ПАВ одинаково увеличиваются с ростом длины алкильного радикала.

Таблица 2 – Данные, полученные при исследовании солубилизации (параметр наклона  $b$  и солубилизационная емкость  $S$ ); сдвиг  $pK_a$  и поверхностный потенциал  $\psi$  для гомологических серий ТФФБ- $n$  и ТМАБ- $n$ .

n	ТФФБ- $n$		ТМАБ- $n$		ТФФБ- $n$		ТМАБ- $n$	
	$b$	$S \times 10^3$	$b$	$S \times 10^3$	$\Delta pK_a^a$	$\psi$ , мВ	$\Delta pK_a^a$	$\psi$ , мВ
8	16.0	0.92	-	-	-	-	-	-
10	16.2	9.3	48	2.7	1.10	65	1.06	59
12	233	13.4	94	5.4	1.33	78	1.22	73
14	348	20.0	154	8.8	1.56	92	-	-
16	482	27.7	277	15.9	1.83	108	1.7	101

$$^a \Delta pK_a = pK_{a,0} - pK_{a,m}$$

#### Влияние строения головной группы на самоорганизацию фосфониевых ПАВ



В нашей работе изучено агрегационное поведение децильных производных амфифильных солей фосфония со стерически загруженной головной группой: три- $n$ -бутил (ТБФБ), три-трет-бутил (ТретБФБ) и проведено сравнение их свойств с ТФФБ-10. На рис. 10 приведены изотермы поверхностного натяжения, которые имеют излом при концентрациях, соответствующих ККМ: 2.7, 8.1 и 9.0 мМ для ТБФБ-10, ТретБФБ-10 и ТФФБ-10, соответственно. Таким образом, значение ККМ для ТФФБ-10 оказалось выше, чем для его аналогов с три- $n$ -бутил и три-трет-бутильными головными группами. Кроме того, ТФФБ-10 снижает поверхностное натяжение лишь до 41 мН/м, в то время как его аналоги – до 32 мН/м. Расчеты на

основе изотерм поверхностного натяжения показывают, что количество молекул ТФФБ-10, способных адсорбироваться на границе раздела вода-воздух, значительно меньше, чем в случае ТБФБ-10 и ТретБФБ-10. Таким образом, для ТФФБ-10 характерна наиболее рыхлая упаковка молекул, что, возможно, является одной из причин более высокого значения ККМ этого ПАВ. Причиной более низкого значения ККМ ТБФБ-10 может быть способность достаточно гибких бутильных радикалов втягиваться внутрь мицелл, усиливая гидрофобный эффект.

Измерение солубилизации гидрофобного зонда подтверждает образование прямых мицелл, имеющих неполярное ядро и способных к связыванию органических субстратов. Несмотря на самое высокое значение ККМ ТФФБ-10 в исследуемом ряду, его солубилизационная емкость ( $S \times 10^3 = 9.3, 1.5, 3.0$  для ТФФБ-10, ТБФБ-10 и ТретБФБ-10, соответственно) оказалась больше, чем у других аналогов. Это связано, вероятно, с тем, что

Оранжевый OT солибилизируется как в гидрофобной области прямых мицелл ТФФБ-10, так и в области фенильных колец. В случае бутильных производных, как предполагалось выше, они могут включаться в неполярное ядро мицелл и, следовательно, не формируют дополнительную область для связывания органических гостей.

Размеры агрегатов, определенные методом динамического рассеяния света, составляют около 2 нм для всех изученных ПАВ. Наибольшее значение дзета-потенциала  $\zeta \sim 60$  мВ обнаружено для ТретБФБ-10, а наименьшее ( $\zeta \sim 20$  мВ) для ТБФБ-10.

#### Кинетика щелочного гидролиза О-алкил-О-п-нитрофенилхлорметилфосфонатов в индивидуальных растворах ТФФБ-п

Известно, что перенос фосфорильной группы играет значительную роль в процессах, протекающих в организме, поэтому фосфониевые соли были исследованы в качестве катализаторов в реакции нуклеофильного замещения п-нитрофениловых эфиров алкилхлорметилфосфоновой кислоты при варьировании гидрофобности амфифильного соединения и субстрата (рис. 11, схема 1). Для выявления влияния природы головной группы в аналогичных условиях была исследована серия ТМАБ.

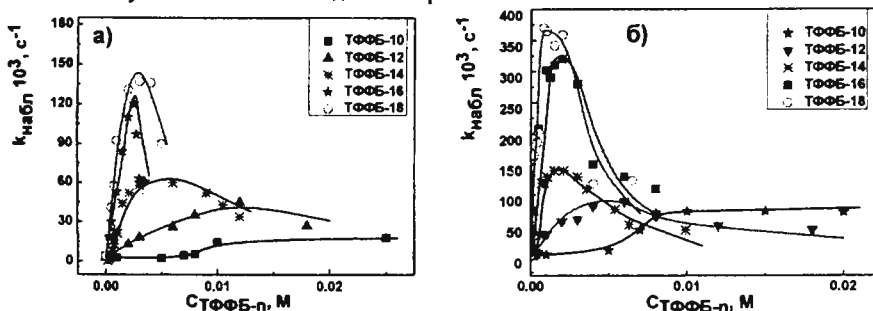


Рис. 11 – Зависимость наблюдаемой константы скорости щелочного гидролиза субстратов 1 (а) и 2 (б) в индивидуальном растворе ТФФБ-п от концентрации ПАВ, 0.001 М NaOH, 25 °С. Символы – экспериментальные данные, линии – теоретические значения.

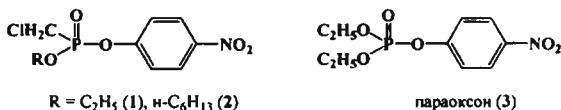


Схема 1 – Субстраты, используемые в кинетических исследованиях.

С увеличением концентрации ПАВ происходит резкое возрастание наблюдаемой константы скорости. Величина ускорения ( $k_{\text{набл}}/k_0$ ) увеличивается в гомологической серии, достигая максимальной величины 34 и 122 для фосфонатов 1 и 2 соответственно. Анализ кинетических зависимостей согласно псевдофазной модели мицеллярного катализа позволил получить значения константы связывания субстрата с агрегатами, константы скорости в мицеллярной псевдофазе и величины ускорения реакции (табл. 3). Согласно приведенным в таблицах данным, смена микроокружения реагентов при переносе реакции в агрегаты ПАВ неблагоприятно влияет на процесс: во всех случаях  $F_m$  меньше единицы. За счет достаточно высоких значений  $F_c$  неблагоприятное действие первого фактора компенсируется, и достигается ускорение более двух порядков в случае ТФФБ-18. Показано, что для ТФФБ-серии наблюдается ярко выраженная субстратная специфичность в реакции щелочного

гидролиза фосфонатов. Так, при переходе от менее гидрофобного субстрата 1 к более гидрофобному фосфонату 2 происходит значительный рост фактора концентрирования реагентов, что выражается в увеличении его абсолютной величины и наклона линейной зависимости  $F_c - n$  от 43.7 до 71.2. Фактор мицеллярного микроокружения изменяется поразному для субстратов 1 и 2. В случае фосфоната 1  $F_m$  более или менее монотонно снижается с ростом числа углеродных атомов  $n$ . Для более гидрофобного субстрата данные для низших и высших гомологов различаются: первоначальное снижение фактора  $F_m$  сменяется противоположной тенденцией его увеличения в гомологической серии ПАВ.

Таблица 3 – Параметры реакции щелочного гидролиза эфиров кислот фосфора 1 и 2 в растворах ТФФБ-п.

ПАВ	$k_{2,m}$ л/(моль с)	$K_S$ , л/моль	$K_{Nu}$ , л/моль	$F_m$	$F_c$	$F_m$ * $F_c$	$k_{max}/$ $k_0$	ККМ, мМ
О-этил-О-п-нитрофенилхорметилфосфонат (субстрат 1)								
ТФФБ-10	0.575	373	18	0.1437	41	6	4.5	9.1
ТФФБ-12	0.588	433	30	0.1471	63	9	11	2.3
ТФФБ-14	0.278	1504	96	0.0694	203	14	15	1.2
ТФФБ-16	0.373	1630	146	0.0933	288	27	30	0.2
ТФФБ-18	0.315	2986	168	0.0786	366	29	34	0.43
О-гексил-О-п-нитрофенилхорметилфосфонат (субстрат 2)								
ТФФБ-10	0.612	434	75	0.204	125	25.5	24.7	7.2
ТФФБ-12	0.357	630	180	0.1190	255	30	30	1.6
ТФФБ-14	0.415	1389	205	0.1384	340	47	47	0.84
ТФФБ-16	0.476	3991	281	0.1587	585	93	107	1.6
ТФФБ-18	0.562	5040	315	0.1873	672	126	122	0.08

Рассчитаны с использованием уравнения  $(k_{max}/k_0)_{max} = \frac{k_{2,m}}{k_{2,0}} \times \frac{K_S K_{Nu}}{V(\sqrt{K_S} + \sqrt{K_{Nu}})^2}$ . В левой части - величина

максимального ускорения реакции, равного отношению наблюдаемой константы скорости ( $k_{набл}$ ) и константы скорости псевдопервого порядка в воде ( $k_0$ ). Первый множитель в правой части выражает влияние на реакционную способность мицеллярного микроокружения ( $F_m$ ), а второй - эффект концентрирования реагентов в мицеллах ( $F_c$ ).

Если сравнить характер изменения суммарного каталитического эффекта и отдельных факторов в гомологической серии ТФФБ, можно сделать вывод, что определяющей тенденцией в случае обоих фосфонатов является изменение эффекта концентрирования. При этом в случае субстрата 2 ключевой вклад вносит характер изменения константы связывания субстрата. Немонотонный ход зависимости в этом случае в некоторой степени поддерживается также изменением фактора микроокружения.

#### Супрамолекулярная система цетилтрифенилфосфоний бромид-полиэтиленгликоль

На следующем этапе работы изучена бинарная система ТФФБ-16-ПЭГ, оба компонента которой широко применяются в процессах биодоставки. Следует отметить, что в индивидуальных водных растворах ПЭГ наблюдается медленное снижение поверхностного натяжения в исследованном диапазоне концентраций. Значения ККА увеличиваются от ~3 до ~6 М (в расчете на мономерное звено) с увеличением молекулярной массы полимера. Короткоцепной полимер ПЭГ-400 также демонстрирует снижение поверхностного натяжения с увеличением концентрации раствора, однако в этом случае не наблюдается четкого излома. Индивидуальные растворы ПЭГ исследованы методом динамического

светорассеяния. Анализ распределения агрегатов по размерам показывает, что в растворе ПЭГ-1000 сосуществуют как свободные макромолекулы, так и их агрегаты. В то же время, вклад агрегатов (кластеров) незначительный, и их можно зафиксировать только при использовании параметра интенсивности, в то время как анализ распределения размера агрегатов, усредненное по числу частиц, не регистрирует их наличие.

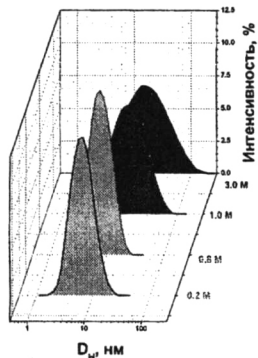


Рис. 12 – Распределение частиц по размеру, усредненное по интенсивности, в водном растворе ПЭГ-20000 при различных концентрациях полимера; 25°C.

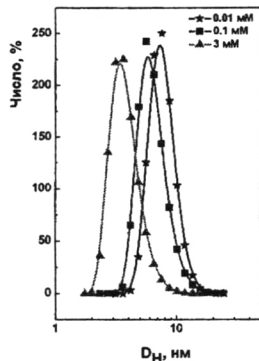


Рис. 13 – Распределение частиц по размеру, усредненное по числу, для системы ТФФБ-16-ПЭГ-20000 при различных концентрациях ПАВ; (0.05 М ПЭГ); 25°C.

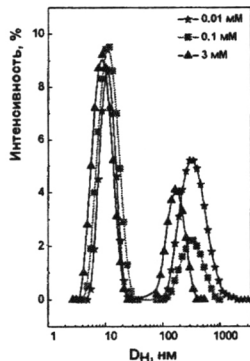


Рис. 14 – Распределение частиц по размеру, усредненное по интенсивности, для системы ТФФБ-16-ПЭГ-20000 при различной концентрации ПАВ; (0.05 М ПЭГ); 25°C.

В растворах ПЭГ-400 наблюдаются малые агрегаты с диаметром 1 нм, характерным для полимерного клубка с радиусом инерции 0.5 нм. В отличие от растворов ПЭГ-1000, для ПЭГ-20000 не наблюдалось образования крупных частиц: агрегированных молекул или кластеров. В его растворах наблюдали лишь небольшие клубки со средним размером 10-20 нм (рис. 12). Гидродинамический диаметр 10 нм совпадает с радиусом инерции полимера – 5 нм.

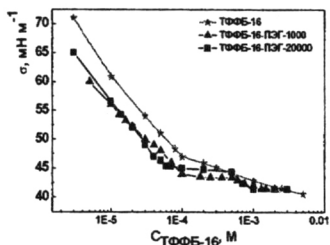


Рис. 15 – Зависимость поверхностного натяжения от концентрации ТФФБ-16 для систем ТФФБ-16-ПЭГ (0.05 М ПЭГ); 25°C.

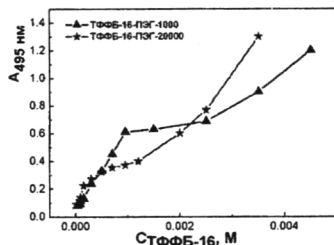


Рис. 16 – Зависимость оптической плотности Оранжевого Т при 495 нм ( $A_{495 \text{ нм}}$ ) в системах ТФФБ-16-ПЭГ от концентрации ПАВ (0.05 М ПЭГ); 25°C.

Бинарные системы ТФФБ-16-ПЭГ подчиняются тем же закономерностям, что и хорошо изученные системы анионное ПАВ-полимер, для которых наблюдалось наличие двух изломов (рис. 15) на изотермах поверхностного натяжения. Первый из них характеризует начало образования агрегатов (так называемая критическая концентрация агрегации, ККА), а второй – концентрацию насыщения полимера мицеллами ПАВ (КНП). В растворах ТФФБ-16-ПЭГ наблюдали сдвиг ККА в область низких концентраций (рис. 15) и большую сольубилизационную емкость (рис. 16) по сравнению с индивидуальными растворами ПАВ, что свидетельствует о синергетическом взаимодействии этих компонентов, т.е. об образовании смешанных агрегатов.

Данные динамического светорассеяния демонстрируют бимодальное распределение по размерам. Практически одинаковое распределение агрегатов по размерам наблюдалось для ПЭГ-1000 и системы ТФФБ-16-ПЭГ-1000. Обнаружено небольшое количество мелких частиц с гидродинамическим диаметром 1-5 нм, и преобладающее число больших агрегатов с диаметром  $\geq 200$  нм. Первые частицы можно отнести к неагрегированным макромолекулам полимера и/или мицеллам ПАВ, как связанных с полимером, так и свободных, а последние – к агрегированным макромолекулам. На рис. 13,14 в качестве примера приведены данные для систем на основе ПЭГ-20000. Данные для системы ТФФБ-16-ПЭГ-20000 сильно отличаются от индивидуальных растворов полимера (рис. 12). Также как и в случае ПЭГ-1000, в растворах ТФФБ-16-ПЭГ-20000 присутствуют агрегаты с диаметром  $\geq 200$  нм. Хотя вклад крупных частиц незначителен и они наблюдаются лишь при анализе распределения агрегатов по размерам с использованием параметра интенсивности (рис. 14), эти данные показывают, что присутствие амфифила способствует формированию кластеров за счет усиления гидрофобного эффекта.

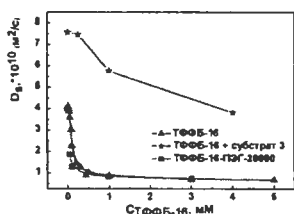


Рис. 17 – Зависимость коэффициента самодиффузии ПАВ и субстрата от концентрации ТФФБ-16 в индивидуальных растворах и при добавлении субстрата 3 и ПЭГ-20000; 30°C.

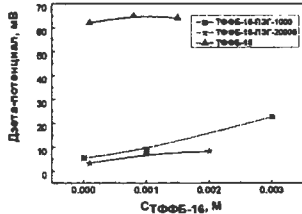


Рис. 18 – Зависимость дзета-потенциала смешанных систем ТФФБ-16-ПЭГ от концентрации ПАВ (0.05 М ПЭГ); 25°C.

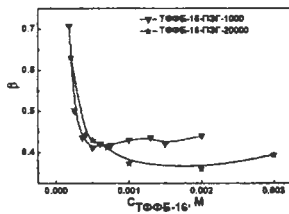


Рис. 19 – Зависимость степени связывания противоиона для систем ТФФБ-16-ПЭГ от концентрации ПАВ; 25°C.

Метод ЯМР-самодиффузии также подтверждает (рис. 17), что добавление полимера приводит к значительному снижению коэффициента самодиффузии ( $D_s$ ) ТФФБ-16, что говорит о формировании смешанных агрегатов:  $D_s$  ТФФБ-16 уменьшается от  $3.58 \times 10^{-10}$  до  $1.86 \times 10^{-10} \text{ м}^2 \text{ с}^{-1}$  при добавлении ПЭГ. Поскольку одной из задач нашего исследования является показать возможность использования полимер-коллоидных систем в качестве наноконтейнеров и катализаторов, было изучено влияние связываемых субстратов на процесс ассоциации. Из-за высокой реакционной способности фосфонатов 1 и 2 для изучения самоорганизации был выбран мало реакционноспособный субстрат п-нитрофенилдиэтил фосфат (субстрат 3;  $k_{2,\text{OH}} = 0.01 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$ ). Установлено, что добавление

органического субстрата приводит к сдвигу процессов мицеллообразования ТФФБ-16 в область более низких концентраций. Заметное снижение коэффициента самодиффузии субстрата 3 с увеличением концентрации ТФФБ-16 (рис.17) говорит о связывании субстрата с мицеллами.

Одним из основных факторов, определяющих функциональную активность катионных ПАВ, в частности, их каталитическую активность в реакции щелочного гидролиза сложных эфиров, является электростатическое притяжение между ионными компонентами, а именно, ОН-ионами и положительно заряженной мицеллярной поверхностью. Установлено, что значения дзета-потенциала ниже для бинарных систем и варьируются в пределах от +3.3 до +8.9 мВ и от +6.6 до +26.6 для систем ТФФБ-16-ПЭГ-1000 и ТФФБ-16-ПЭГ-20000 (рис. 18), соответственно, при концентрации ПАВ вблизи ККА. Для индивидуальных мицелл ТФФБ-16 значение дзета-потенциала составляет от +60 до +65 мВ. Степень связывания противоиона уменьшается от 0.6-0.7 (вблизи ККМ) до 0.4 при больших концентрациях ТФФБ-16 (рис. 19), что совпадает с увеличением значений дзета-потенциала, причем эти значения  $\beta$  значительно ниже, чем в случае индивидуальных растворов ТФФБ-16 ( $\beta=0.8$ ).

**Каталитическая активность системы ТФФБ-16-ПЭГ в реакции щелочного гидролиза**

**О-алкил-О-п-нитрофенилхорметилфосфонатов. Кинетические доказательства синергетического поведения**

Для обеих систем ТФФБ-16-ПЭГ наблюдались более высокие константы скорости по сравнению с индивидуальными растворами ПАВ (рис. 20 и 21). Эффективность катализа увеличивается в следующем порядке: ТФФБ-16 < ТФФБ-16-ПЭГ-1000 < ТФФБ-16-ПЭГ-20000. В этом ряду показано примерно 2- и 1.5-кратное увеличение каталитической активности в реакции гидролиза фосфонатов 2 и 1.

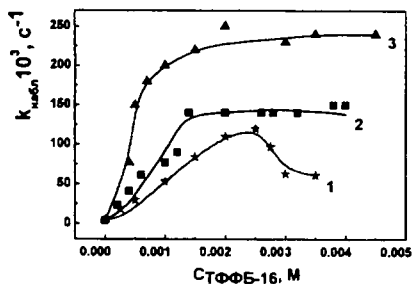


Рис. 20 – Зависимость наблюдаемой константы скорости щелочного гидролиза 1 в индивидуальных растворах ТФФБ-16 (1), в смешанных системах ТФФБ-16-ПЭГ-1000 (2) и ТФФБ-16-ПЭГ-20000 (3) от концентрации ПАВ; (0.001 М NaOH, 0.05 М ПЭГ); 25°C. Символы – экспериментальные данные, линии – теоретические значения.

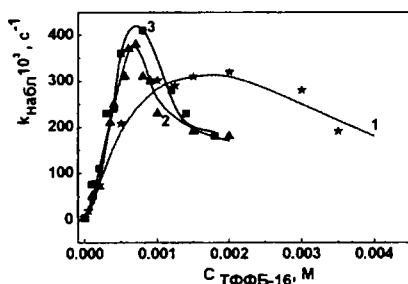


Рис. 21 – Зависимость наблюдаемой константы скорости щелочного гидролиза 2 от концентрации ПАВ в системе ТФФБ-16 (1), ТФФБ-16-ПЭГ-1000 (2) и ТФФБ-16-ПЭГ-20000 (3); (0.001 М NaOH, 0.05 М ПЭГ); 25°C. Символы – экспериментальные данные, линии – теоретические значения.

Индивидуальные растворы ПЭГ не оказывают каталитического эффекта, и, следовательно, увеличение скорости реакции в смешанных полимер-коллоидных комплексах связано с усилением мицеллярного эффекта ТФФБ-16. В присутствии полимера наблюдается значительное смещение кинетических зависимостей в область более низких концентраций

ПАВ, что подтверждает снижение ККА смешанной системы по сравнению с индивидуальными растворами ТФФБ-16. Эти данные можно рассматривать в качестве аргументов в пользу синергетического поведения бинарных систем ТФФБ-16-ПЭГ.

Анализ кинетических данных показывает, что для менее гидрофобного фосфоната 1, наблюдается значительное изменение реакционной способности при переходе от индивидуальных к смешанным системам. Фактор концентрирования  $F_c$  уменьшается при добавлении ПЭГ к раствору ТФФБ-16 (табл. 4). Этот эффект обусловлен снижением константы связывания субстрата (система ТФФБ-16-ПЭГ-1000) и нуклеофила (система ТФФБ-16-ПЭГ-20000). Более низкие значения  $K_{Nu}$  для систем ТФФБ-16-ПЭГ согласуются с данными по измерению дзета-потенциала смешанных систем (рис. 18). Более высокая реакционная способность ТФФБ-16-ПЭГ по сравнению с ТФФБ-16 является результатом значительного роста константы скорости второго порядка в агрегатах (табл. 4). Так, практически двукратное увеличение  $k_{2,m}$  происходит при переходе от индивидуальных систем ТФФБ-16 к системе ТФФБ-16-ПЭГ-1000 и далее к системе ТФФБ-16-ПЭГ-20000. В случае более гидрофобного субстрата 2 изменение фактора концентрирования контролирует повышение каталитической активности субстрата при добавлении ПЭГ. В присутствии ПЭГ-1000 и ПЭГ-20000 происходит примерно 4.5- и 3.5-кратное увеличение  $k_{набл}$ , соответственно, что связано с увеличением константы связывания обоих реагентов (табл. 4).

Таблица 4 – Результаты анализа кинетических данных (рис. 20 и 21).

Система	$k_{2,m}$ , л/(моль с)	$K_S$ , л/моль	$K_{Nu}$ , л/моль	$F_m$	$F_c$	$F_m \times F_c$
<b>О-этил-О-п-нитрофенилхлорметилфосфонат (субстрат 1)</b>						
ТФФБ-16	0.37	1630	145	0.093	290	27
ТФФБ-16-ПЭГ-1000	0.60	926	140	0.16	240	37.6 (38.6)
ТФФБ-16-ПЭГ-20000	1.27	2050	82	0.31	190	53.3 (54.6)
<b>О-гексил-О-п-нитрофенилхлорметилфосфонат (субстрат 2)</b>						
ТФФБ-16	0.48	3990	281	0.16	585	93
ТФФБ-16-ПЭГ-1000	0.13	9860	1557	0.043	2658	113
ТФФБ-16-ПЭГ-20000	0.17	11275	1047	0.052	2050	106

#### Супрамолекулярная система алкилтрифенилфосфоний бромид-полиэтиленimina.

Еще менее изученными являются системы на основе катионных ПАВ и положительно заряженных полиэлектролитов. Их совместная агрегация является дискуссионным вопросом, требующим дополнительных исследований и определения движущих сил данного явления. Вместе с тем положительно заряженные строительные блоки находят широкое применение в биотехнологиях, поэтому создание таких полимер-коллоидных систем является актуальной задачей. В данной работе исследована система на основе амфифильных фосфониевых солей и положительно заряженного полиэлектролита полиэтиленимина (ПЭИ). Дополнительная мотивация данного исследования связана с тем, что (1) ПЭИ является широко востребованным полимером при разработке синтетических катионных агентов для доставки генного материала; (2) в отсутствие буфера ПЭИ проявляет свойства слабого полиэлектролита, что будет способствовать совместной агрегации за счет ослабления сил отталкивания. На рис. 22 представлены тензиометрические данные для бинарных систем ТФФБ-п-ПЭИ. Вид зависимостей для высших и низших членов ряда значительно различается. Для ТФФБ-10 и ТФФБ-12 отмечен один излом, соответствующий началу агрегации в системе, т.е. критической концентрации агрегации (ККА). Значения ККА в этих системах составляют 6.7 и 2.1 мМ соответственно, что мало отличается от индивидуальных

растворов ПАВ. В случае высших гомологов поверхностное натяжение продолжает изменяться выше точки ККА по аналогии с хорошо изученными системами на основе анионных ПАВ и незаряженных гидрофильных полимеров. Для высших гомологов ТФФБ-п ( $n=14, 16, 18$ ) отмечены две критические концентрации. Значение ККА (первый излом на зависимости, рис. 22) в бинарных системах на один-два порядка ниже, чем в индивидуальных растворах, что свидетельствует о значительном синергетическом эффекте.

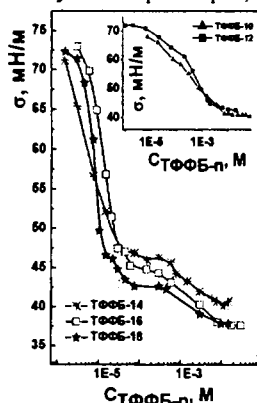


Рис. 22 – Зависимость поверхностного натяжения от концентрации ТФФБ-п;  $C_{ПЭИ}=0.05$  М; 25 °С.

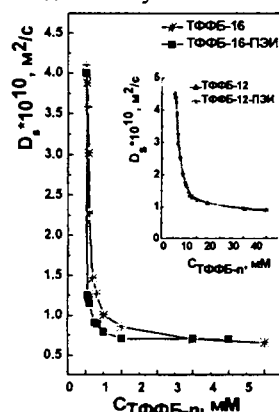


Рис. 23 – Зависимость коэффициента самодиффузии ПАВ в системах ТФФБ-16-ПЭИ;  $C_{ПЭИ}=0.05$  М; 30 °С.

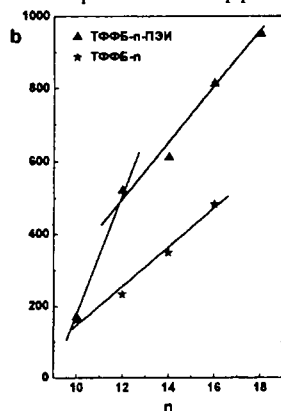


Рис. 24 – Зависимость наклона солюбилизационных зависимостей (b), от числа атомов углерода для серий ТФФБ-п и ТФФБ-п-ПЭИ.

Кондуктометрические зависимости для всех ПАВ содержат только один излом, причем в случае низших гомологов значения критических концентраций близки к значениям ККА на тензиометрических зависимостях, а для высших членов ряда ( $n=14, 16, 18$ ) – несколько выше. Метод ЯМР-самодиффузии, позволяющий контролировать состояние (свободное или агрегированное) каждого компонента системы, был применен в нашей работе для оценки агрегации в бинарных системах на примере двух фосфониевых ПАВ различной гидрофобности ТФФБ-12 и ТФФБ-16. Данные, приведенные на рис. 23, полностью подтверждают различный механизм смешанной агрегации низших и высших гомологов. В случае ТФФБ-12 значение коэффициента самодиффузии  $D_s$  ПАВ не изменяется при добавлении полимера, а в системе на основе ТФФБ-16 наблюдается резкое снижение величины  $D_s$  при концентрациях значительно ниже ККА индивидуального ПАВ ( $KCM=0.1$  мМ). В частности, при 0.04 мМ  $D_s$  составляет  $3.7 \times 10^{-10}$  и  $1.2 \times 10^{-10}$  м<sup>2</sup>/с в индивидуальной и бинарной системах соответственно. При концентрации 0.1 мМ (ККА индивидуального ПАВ) числа агрегации в сферическом приближении увеличиваются от 6 в отсутствие ПЭИ до ~60 в бинарной системе. Эти данные однозначно свидетельствуют о значительном повышении агрегационной активности ТФФБ-16 в присутствии ПЭИ и резком снижении концентрационного порога агрегации, что позволяет сделать вывод о проявлении синергетического эффекта, т.е. формировании смешанных агрегатов ПАВ-полимер. При исследовании солюбилизации гидрофобного зонда для систем на основе ТФФБ-10 и ТФФБ-12 обнаружен один излом, при концентрации ПАВ, достаточно хорошо совпадающей с



критическими точками, найденными другими методами. Для высших членов ряда существует второй излом, при концентрациях существенно ниже тензиометрических значений КНП. Изменение наклона зависимостей оптической плотности от концентрации ПАВ ( $b$ ) отражает изменение сольбилизационной емкости мицелл в отношении зонда. Из данных, приведенных на рис. 24, видно, что сольбилизационная емкость мицелл низших гомологов ( $n=10, 12$ ) существенно отличается от более гидрофобных ПАВ, о чем свидетельствует излом на зависимости  $b - n$  при  $n=12$ . Вероятно, это подтверждает предположение, что высшие члены ряда образуют смешанные агрегаты ПАВ-полимер в отличие от низших гомологов. Сольбилизационная емкость смешанных мицелл, пропорциональная величине  $b$ , намного выше, чем для индивидуальных агрегатов ТФФБ- $n$ . Наклон зависимости на рис. 24 примерно одинаков для смешанных систем ( $n=14, 16, 18$ ) и индивидуальных агрегатов, что косвенно указывает на одинаковую мицеллоподобную морфологию агрегатов. Информация о размерах агрегатов получена методом динамического рассеяния света. Анализ распределения агрегатов по размерам, нормированного по числу частиц, показывает мономодальное распределение с заселенностью в области 20-25 нм. Этот размер отличается от индивидуальных мицелл ТФФБ- $n$  ( $D_H \leq 4$  нм и клубков ПЭИ (расчетный радиус инерции 5 нм), что косвенно свидетельствует об образовании новых полимер-коллоидных структур.

#### Супрамолекулярные каталитические системы на основе полимера и ПАВ в реакции кросс-сочетания Сузуки

Реакция кросс-сочетания с участием арилгалогенидов и металлорганических соединений широко используется в синтезе для образования несимметричных биарильных структурных фрагментов в органических молекулах, т.е. является методом получения важных биологически активных препаратов (лекарственных средств, пестицидов, отравляющих веществ), проводящих полимеров, пламягасителей, жидкокристаллических материалов и пр. Поэтому совершенствование синтетических подходов к образованию С-С связей остается актуальной проблемой.

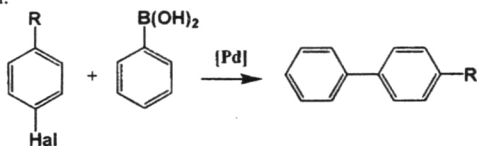


Схема 2 – Реакция кросс-сочетания Сузуки.

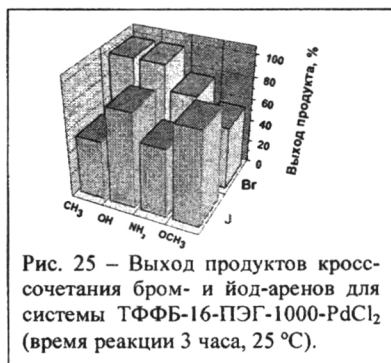


Рис. 25 – Выход продуктов кросс-сочетания бром- и йод-аренов для системы ТФФБ-16-ПЭГ-1000-PdCl<sub>2</sub> (время реакции 3 часа, 25 °С).

Значительная часть исследований реакции Сузуки (схема 2) проводится в среде органических растворителей, в анаэробных условиях в присутствии лигандов. В рамках данного исследования поставлена задача создания новой эффективной каталитической системы на основе полимер-коллоидных комплексов, оптимизация ее состава и проведение процесса на воздухе, при комнатной температуре, в отсутствие лигандов.

Вначале на примере супрамолекулярной системы ПЭГ-ДСН, свойства которой хорошо изучены, в присутствии PdCl<sub>2</sub> были определены оптимальные условия для проведения реакции кросс-сочетания, которые составили основу для

дальнейших поисков. Как было показано выше, величина ККМ фосфониевых ПАВ намного ниже, а солюбилизационная емкость выше известных аналогов, что позволяет прогнозировать их высокую эффективность в качестве мицеллярных со-катализаторов в реакциях кросс-сочетания. В рамках дальнейшего исследования проведено варьирование гидрофобности и структуры головной группы фосфониевых ПАВ, переход к геминальным аналогам и определение влияния структурных факторов на выход продукта кросс-сочетания. В связи с тем, что оптимум функциональных свойств, как правило, приходится на ПАВ с гексадецильным радикалом, предварительные исследования проведены в системах на основе ТФФБ-16. Наиболее оптимальной оказалась концентрация 2 мМ, при которой в растворе присутствуют как свободные мицеллы ТФФБ-16, так и смешанные агрегаты ПАВ-полимер. На рис. 25 приведены выходы продуктов кросс-сочетания для различных бром- и йодаренов с фенилборной кислотой в присутствии каталитической композиции ТФФБ-16-ПЭГ-1000-RdCl<sub>2</sub>. Как и в случае системы ДСН-ПЭГ выход продуктов оказался выше для бромаренов. Кроме того, наблюдается различное влияние заместителей в серии бромаренов и йодаренов. Для бромаренов выход продуктов уменьшается в ряду заместителей  $\text{CH}_3 \approx \text{OH} > \text{NH}_2 > \text{OCH}_3$ , а для йод-производных следующим образом:  $\text{OCH}_3 \approx \text{OH} > \text{NH}_2 > \text{CH}_3$ .

Таблица 5 – Выходы продуктов кросс-сочетания бромаренов в присутствии комплексного катализатора соль палладия/фосфониевая соль.

Заместитель	Выход продукта, %		
	ТретБФБ-10	ТБФБ-10	ТФФБ-10
-CH <sub>3</sub>	83.5	87.5	59.6
-OCH <sub>3</sub>	46.6	54.3	53.5
-OH	88.3	94.5	41.8
-NH <sub>2</sub>	38.2	59.8	9.4

Для определения соотношения структура-активность ПАВ исследовано влияние строения головной группы, числа головных групп и длины алкильного радикала на выход целевого продукта. В качестве ПАВ были выбраны амфифилы с три-н-бутильной, три-трет-бутильной и трифенилфосфониевой головной группой и децильным радикалом. Выбор ПАВ с коротким радикалом был обусловлен их большей растворимостью в воде. Как видно из данных табл. 5, в ряде случаев достигаются очень высокие выходы, превышающие 90 %, причем для субстратов с электронодонорными заместителями  $\text{CH}_3$  и  $\text{OH}$  (положительный мезомерный эффект) в пара-положении, хотя реакция формально относится к нуклеофильному замещению в ароматическом кольце. Следует отметить следующие закономерности. Выход продуктов зависит от природы заместителя и изменяется в следующем ряду:  $\text{OH} > \text{CH}_3 > \text{NH}_2 \approx \text{OCH}_3$ . Такой же порядок реакционной способности был найден ранее для ТФФБ-16 (рис. 25). Природа головной группы ПАВ также оказывает существенное влияние на реакционную способность субстратов, особенно в случае более эффективного катализа. Наибольший эффект наблюдается для бромтолуола и бромфенола: снижение выхода в ряду ТБФБ-10 > ТретБФБ-10 > ТФФБ-10 (табл. 5). Этот ряд хорошо совпадает с изменением мицеллообразующих свойств фосфониевых солей, что позволяет предположить вклад факторов мицеллярного катализа в ускорение реакции.

При оценке гидрофобности ПАВ установлено, что с увеличением длины алкильного радикала ТФФБ-п происходит сначала незначительный (для ТФФБ-10 и 12), а затем резкий (ТФФБ-14, 16 и 18) рост выхода продукта кросс-сочетания (рис. 26). Это, вероятно, связано с большей солюбилизирующей емкостью длинноцепных представителей ТФФБ, большими числами агрегации и низкими значениями ККМ. Эти результаты хорошо согласуются с

полученными ранее данными, показывающими резкое изменение свойств смешанных систем

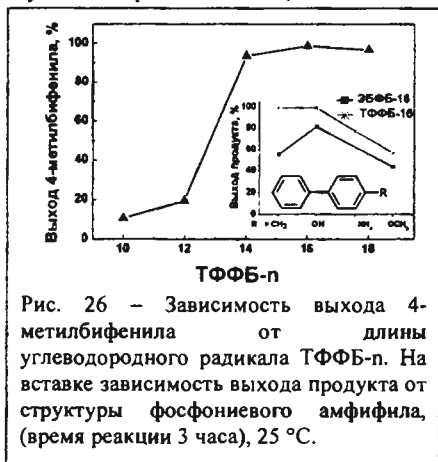


Рис. 26 – Зависимость выхода 4-метилбифенила от длины углеводородного радикала ТФФБ-*n*. На вставке зависимость выхода продукта от структуры фосфониевого амфифила, (время реакции 3 часа), 25 °С.

течение 2-3 часов.

ПАВ-полимер при переходе от низших к высшим аналогам.

При переходе от ТФФБ-16 к геминальному ПАВ ЭБФБ-16 (рис. 27) наблюдалось снижение выхода продуктов, несмотря на более высокую агрегационную способность геминального ПАВ. В то же время, нами показано, что сольубилизационная емкость ЭБФБ-16 по отношению к гидрофобным субстратам ниже, чем для ТФФБ-16, что возможно, является одной из причин снижения каталитической активности системы (рис. 26 вставка).

Таким образом, разработанный протокол позволяет проводить реакцию в отсутствие органических растворителей и лигандов, при комнатной температуре, на воздухе и обеспечивает высокие выходы продуктов в

#### Комплексообразование олигонуклеотид/катионное ПАВ

Катионные ПАВ привлекают внимание исследователей как перспективные синтетические агенты (векторы) для доставки генного материала, способные составить достойную альтернативу природным агентам на основе вирусов. В рамках диссертационной работы изучено взаимодействие ТФФБ-*n* с олигомером ДНК, олигонуклеотидом (ОНu), имеющим следующую последовательность звеньев: GCGTTAACGC, где А, С, G и Т – аденин, цитозин, гуанин и тимин, соответственно. Кроме гомологической серии ТФФБ-*n* нами были также проведены предварительные исследования геминальных аналогов этан-1,2-диилбис(алкилдифенилфосфоний) дибромидов ЭБФБ-*n* (где алкил = децил, додецил, тетрадецил и гексадецил) (рис. 27). Геминальные ПАВ широко востребованы в современных технологиях благодаря улучшенным агрегационным и поверхностным свойствам.

Основными проблемами, которые следует решить при транспорте ДНК через клеточные мембраны – это нейтрализация заряда анионных групп и компактизация молекул нуклеиновых кислот. Поэтому при рекомендации новых катионных ПАВ в качестве агентов-переносчиков ДНК, необходимо оценить их способность к комплексообразованию с нуклеотидными звеньями, включая перезарядку комплекса и соответствие его размера критерию ~200 нм, предполагающему возможность длительной циркуляции комплекса в организме. В связи с этим на первом этапе исследования методом динамического и электрофоретического светорассеяния контролировали размеры комплексов и их дзета-потенциал (для примера на рис. 28а приведены данные для комплекса ТФФБ-10-олигонуклеотид).

При увеличении соотношения [ПАВ]/[ОНu] наблюдается значительное возрастание гидродинамического диаметра от 4-5 нм (индивидуальные компоненты) до 100-200 нм.

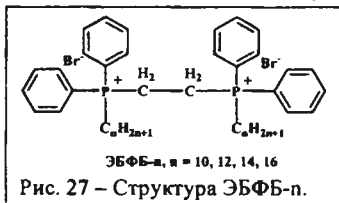


Рис. 27 – Структура ЭБФБ-*n*.

Согласно литературным данным, такое увеличение размера обусловлено формированием везикул и свидетельствует о комплексообразовании ПАВ/ОНu, обусловленном электростатическими взаимодействиями между положительно заряженной головной группой ТФФБ и анионом фосфатного остатка.

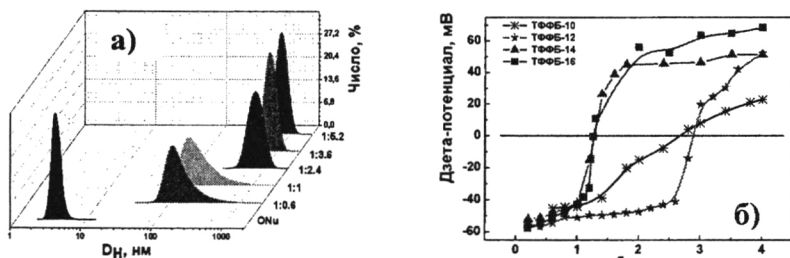


Рис. 28 – а) Распределение размера агрегатов (гидродинамического диаметра), усредненное по числу частиц, для комплекса ТФФБ-10-олигонуклеотид; б) зависимость дзета-потенциала от соотношения  $r = [\text{ПАВ}]/[\text{ОНu}]$ .

Таблица 6– Соотношение  $[\text{ПАВ}]/[\text{ОНu}]$  ( $r$ ), соответствующее перезарядке комплекса и максимальной степени связывания компонентов ( $\beta$ ), определенное методом вытеснения ЭБ.

ТФФБ-п	Значение $r$ при перезарядке комплекса ПАВ – ОНu	Степень связывания, $\beta$ (метод вытеснения ЭБ)	
		Максимальное значение $\beta$	Значение $r$ при максимальном значении $\beta$
ТФФБ-8	-	0.6	233
ТФФБ-10	2.7	0.71	242
ТФФБ-12	2.9	1.0	5.7
ТФФБ-14	1.3	1.0	5.1
ТФФБ-16	1.2	1.0	4.6
ТФФБ-18	-	1.0	1.0
ЭФФБ-16	-	0.72	45.1
ЦТАБ	3.5	0.70	5.1

Другой ключевой фактор – перезарядка комплекса. При этом необходимо контролировать два параметра – заряд агрегатов и соотношение  $[\text{ПАВ}]/[\text{ОНu}]$ , соответствующее нейтрализации отрицательного заряда фосфат-анионов. Методом электрофоретического рассеяния света показана нейтрализация отрицательного заряда нуклеотидных звеньев. Причем, чем длиннее углеводородный радикал амфила, тем при меньших значениях  $r = [\text{ПАВ}]/[\text{ОНu}]$  происходила перезарядка комплекса (рис. 28б, табл. 6).

Для исследования комплексообразования ПАВ/ОНu был использован также метод тушения флуоресценции зонда-интеркалятора этидиума бромида (ЭБ). Интенсивность его флуоресценции возрастает в присутствии олигонуклеотида, однако, при введении катионных ПАВ, выступающих в качестве гасителей флуоресценции вследствие конкурентного вытеснения зонда из комплекса с ОНu, наблюдается уменьшение интенсивности флуоресценции. Анализ флуоресцентных эмиссионных спектров изучаемых систем позволил определить степень связывания ОНu ( $\beta$ ) молекулами амфила по уравнению  $\beta = (I_{\text{связ}} - I_{\text{набл}}) / (I_{\text{связ}} - I_{\text{своб}})$ , где  $I_{\text{связ}}$  и  $I_{\text{своб}}$  – интенсивности флуоресценции связанного и свободного этидиума бромида;  $I_{\text{набл}}$  – наблюдаемая интенсивность. Для низших гомологов

ТФФБ ( $n=8,10$ )  $\beta$  составляет 60 и 70 %, соответственно. Для высших гомологов ТФФБ ( $n=12, 14, 16, 18$ )  $\beta=100$  % при  $r=1$  для ТФФБ-18 и  $r \sim 5$  для остальных гомологов.

Структура фосфониевых ПАВ оказывает существенное влияние на их взаимодействие с олигонуклеотидом. Как и в случае агрегационного поведения, эффективность комплексообразования в гомологической серии изменяется немонотонно и значительно возрастает при переходе к высшим членам ряда. Особенно наглядно это проявляется в экспериментах по исключению ЭБ. Вероятно, в комплексообразовании вносит вклад не только электростатический механизм, опосредованный стехиометрическими взаимодействиями компонентов, но и кооперативные силы, включая гидрофобный эффект, солюбилизационный механизм и пр. Об этом свидетельствует тот факт, что величина  $r$ , соответствующая максимальному тушению ЭБ, резко снижается в гомологическом ряду при переходе к более гидрофобным аналогам, проявляющим высокую мицеллообразующую способность. Несмотря на более низкие значения ККМ ЭБФБ, они оказались менее эффективными в процессе комплексообразования с олигонуклеотидом (табл. 6). Сравнение полученных результатов с аналогичными данными для типичного катионного ПАВ ЦТАБ показывает, что ТФФБ-16 обеспечивает более эффективное связывание олигонуклеотида ( $\beta=1.0$  по сравнению с 0.71 для ЦТАБ) при более низких соотношениях  $[PAV]/[ONu]$ .

### Основные результаты и выводы

1. Определены важнейшие количественные параметры, контролирующие функциональную активность мицеллярных систем, в гомологической серии трифенилфосфониевых ПАВ: критическая концентрация мицеллообразования (ККМ), поверхностный потенциал, степень связывания противоионов. Установлены существенные различия некоторых свойств для высших и низших гомологов. Показано, что агрегационная способность и солюбилизационная емкость катионных ПАВ с трифенилфосфониевой группой выше, чем для гомологической серии типичных катионных ПАВ с аммониевой головной группой. На примере децильных производных установлено, что при варьировании природы головной группы величина ККМ уменьшается в ряду: фенил > трет-бутил > н-бутил.
2. Алкилтрифенилфосфоний бромиды (ТФФБ- $n$ ) проявляют каталитический эффект в реакции нуклеофильного замещения в п-нитрофениловых эфирах алкилхлорметилфосфоновых кислот: алкил = этил (1); гексил (2), который возрастает с увеличением гидрофобности субстратов и ПАВ и в два раза превышает ускорение, обеспечиваемое аммониевыми ПАВ. Максимальный каталитический эффект фосфониевых ПАВ определяется тенденцией изменения фактора концентрирования; в случае менее гидрофобного фосфоната 1 наблюдается его монотонное возрастание, а в случае фосфоната 2 – резкое увеличение при переходе к высшим членам ряда.
3. Впервые показано, что образуются смешанные агрегаты на основе полиэтиленгликоля (ПЭГ) и ТФФБ-16 при концентрациях значительно ниже ККМ индивидуальных ПАВ. Синергетический эффект увеличивается с ростом молекулярной массы полимера и выражается в увеличении солюбилизационной и каталитической активности систем. Для бинарных систем ТФФБ- $n$ -полиэтиленмин установлено, что способность к образованию совместных агрегатов реализуется только для высших членов гомологической серии фосфониевых ПАВ.
4. Разработан новый протокол для реакции Сузуки на основе комплексного катализатора  $PdCl_2$ -ПЭГ-фосфониевые ПАВ, обеспечивающий высокий выход продуктов кросс-сочетания в водных средах, при комнатной температуре, на воздухе, в отсутствие лигандов. Выход целевого продукта выше для арилбромидов по сравнению с арилиодидами, увеличивается с

ростом гидрофобности ПАВ, зависит от структуры заместителя в головной группе ПАВ (трифенил < трет-бутил < н-бутил) и в бромаренах ( $\text{NH}_2\text{OCH}_3 < \text{OH} < \text{CH}_3$ ).

5. Впервые установлена способность монокатионных и геминальных фосфониевых ПАВ к комплексообразованию с декамером ДНК с образованием совместных агрегатов с гидродинамическим диаметром 100-150 нм. Это подтверждается компенсацией заряда фосфатных групп олигонуклеотида и тушением флуоресценции зонда-интеркалятора этидиума бромидом. Эффективность комплексообразования фосфониевых ПАВ выше, чем для классического катионного ПАВ цетилтриметиламмоний бромида, коррелирует с мицеллообразующей способностью ТФБ-п и снижается при переходе от монокатионных к геминальным ПАВ.

**Публикации в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК для размещения материалов конференций:**

1. Ibragimova A.R. The polyethylene glycol – sodium dodecyl sulfate –  $\text{PdCl}_2$ -water Supramolecular catalytic system for the Suzuki reaction / A.R. Ibragimova, G.I. Vagapova, G.A. Gaynanova, V.V. Syakaev, V.M. Zakharov, L.Ya. Zakharova, A.I. Kononov // *Mendelev Communication* – 2011. – V. 21. – P. 53-55.
2. Gainanova G.A. Self-Assembling Systems Based on Amphiphilic Alkyltriphenylphosphonium Bromides. An Elucidation of Role of Head Group / G.A. Gainanova, G.I. Vagapova, V.V. Syakaev, A.R. Ibragimova, F.G. Valeeva, E.V. Tudriy, I.V. Galkina, O.N. Kataeva, L.Ya. Zakharova, Sh.K. Latypov, A.I. Kononov // *J. Colloid Interface Sci.* – 2012. – V. 367. – P. 327-336.
3. Zakharova L.Ya. Comparative Study of Aqueous Solutions of Cationic Surfactants: Structure/Activity Relation in Their Aggregation and Solubilization Behavior and Complexation with an Oligonucleotide / L.Ya. Zakharova, R.R. Kashapov, G.I. Vagapova, D.R. Gabdrakhmanov, E.A. Vasilieva // *Chemistry Letters*. – 2012. – V. 41 – P. 1245-1247.
4. Vagapova G.I. Novel self-assembling systems based on amphiphilic phosphonium salt and polyethylene glycol. Kinetic arguments for synergetic aggregation behavior / G.I. Vagapova, F.G. Valeeva, G.A. Gainanova, V.V. Syakaev, I.V. Galkina, L.Ya. Zakharova, Sh.K. Latypov, A.I. Kononov // *Colloid Surf. A: Physicochem. Engineering Aspects*. – 2013. – V. 419. – P. 186-193.
5. Vagapova G.I. Novel biomimetic systems based on polyethylene glycols and amphiphilic phosphonium salt. Self-organization and solubilization of hydrophobic guest / G.I. Vagapova, A.R. Ibragimova, A.V. Zakharov, A.B. Dobrynin, I.V. Galkina, L.Ya. Zakharova, A.I. Kononov // *Eur. Pol. J.* – 2013. – V. 49. – P. 1031-1039.

*Прочие публикации*

1. Аблакова Ю.Р. Катализ реакции Сузуки в мицеллярных системах на основе неионных амфифилов / Ю.Р. Аблакова, Г.И. Вагапова, Г.А. Гайнанова, А.Р. Ибрагимова, В.В. Сякаев, В.М. Захаров, Л.Я. Захарова // XVI Всероссийская конференция “Структура и динамика молекулярных систем”: Сб. статей. – Йошкар-Ола: МГТУ – 2009. – С. 136-139.
2. Кудряшова Ю.Р. Самоорганизация и каталитическая активность систем на основе додецилсульфата натрия – полиэтиленгликоля –  $\text{PdCl}_2$  в реакции Сузуки / Ю.Р. Кудряшова, Г.И. Вагапова, А.Р. Ибрагимова, Г.А. Гайнанова, В.М. Захаров, Л.Я. Захарова, А.И. Коновалов // XVI Всероссийская конференция “Структура и динамика молекулярных систем”: Сб. статей. – Йошкар-Ола: МГТУ – 2010. – С. 333-336.
3. Вагапова Г.И. Самоорганизация и каталитическая активность алкилтрифенилфосфоний бромидов / Г.И. Вагапова, Ф.Г. Валеева, А.Р. Ибрагимова, Г.А. Гайнанова, Л.Я. Захарова, В.В. Сякаев, И.В. Галкина, Е.В., Тудрий, А.О. Романов // Материалы XIV молодежной конференции по органической химии. – Екатеринбург. – 2011. – С. 54-56.
4. Вагапова Г.И. Самоорганизация и каталитическая активность цетилтрифенилфосфоний бромида и его смеси с полиэтиленгликолем / Г.И. Вагапова, Г.А. Гайнанова, Ф.Г. Валеева,

А.Р. Ибрагимова, И.В. Галкина, И.Х. Ризванов, Л.Я. Захарова // Электронный журнал «Структура и динамика молекулярных систем». – Йошкар-Ола. – №13, А. – 2011. – С. 23-25.

*Материалы конференций*

1. Ablakova Yu.R. Self-organization and catalytic activity of the systems based on amphiphilic phosphonium salts / Yu.R. Ablakova, G.I. Vagapova, G.A. Gaynanova, V.V. Syakaev, L.Ya. Zakharova, I.V. Galkina, A.I. Kononov // V International Symposium "Molecular Design and Synthesis of Supramolecular Architectures": Abstracts. – Kazan – 2009. – P. 137.
2. Vagapova G.I. The catalysis of Suzuki reaction in the presence of polyethyleneglycols and surfactants / G.I. Vagapova, G.A. Gaynanova, V.V. Syakaev, L.Ya. Zakharova, A.I. Kononov // V young scientists conference "Modern problems of polymer science": Abstracts. – Saint-Petersburg. – 2009. – P. 49.
3. Вагапова Г.И. Наноразмерный каталитический комплекс ПАВ-полимер в реакции кросс-сочетания / Г.И. Вагапова, А.Р. Ибрагимова, Г.А. Гайнанова, Л.Я. Захарова // Всероссийская конференция с элементами научной школы для молодежи "Актуальные проблемы органической химии": Сб. материалов. – Казань. – 2010. – С. 188.
4. Вагапова Г.И. Супрамолекулярные каталитические системы на основе полимера и ПАВ в реакции кросс-сочетания Сузуки / Г.И. Вагапова, А.Р. Ибрагимова, Г.А. Гайнанова, Л.Я. Захарова // Всероссийская школа-конференция для молодых ученых "Макромолекулярные нанообъекты и полимерные нанокомпозиты": Тез. докл. – Москва. – 2010. – С. 55.
5. Ибрагимова А.Р. Новый наноразмерный полимерный комплекс для катализа реакции кросс-сочетания / А.Р. Ибрагимова, Г.И. Вагапова, Г.А. Гайнанова, И.Х. Ризванов, В.М. Захаров, Л.Я. Захарова, А.И. Коновалов // VI Санкт-Петербургская конференция молодых ученых «Современные проблемы науки о полимерах»: Тез. докл. – Санкт-Петербург. – 2010. – С. 52.
6. Вагапова Г.И. Агрегационные свойства и каталитическая активность алкилтрифенилфосфоний бромидов / Г.И. Вагапова, Ф.Г. Валеева, А.Р. Ибрагимова, Г.А. Гайнанова, Л.Я. Захарова, В.В. Сякаев, И.В. Галкина, Е.В. Тудрий, И.Х. Ризванов, А.О. Романов // Всероссийская молодежная конференция "Успехи химической физики": Тез. докл. – Черногловка. – 2011. – С. 30.
7. Вагапова Г.И. Супрамолекулярная система цетилтрифенилфосфоний бромид-полиэтиленгликоль / Г.И. Вагапова, Г.А. Гайнанова, А.Р. Ибрагимова, Ф.Г. Валеева, И.Х. Ризванов, И.В. Галкина, Л.Я. Захарова // I Всероссийский симпозиум по поверхностно-активным веществам "От коллоидных систем к нанохимии" (с международным участием): Тез. докл. – Казань. – 2011. – С. 60.
8. Гайнанова Г.А. Влияние амфифильных трифенилфосфоний бромидов на скорость гидролитического разложения эфиров кислот фосфора / Г.А. Гайнанова, Г.И. Вагапова, Ф.Г. Валеева, А.Р. Ибрагимова, И.В. Галкина, Л.Я. Захарова, А.И. Коновалов // Всероссийская молодежная конференция "Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем": Сб. материалов. – Казань. – 2011. – С. 20-21.
9. Вагапова Г.И. Бинарная каталитическая система на основе катионного фосфониевого ПАВ и неонного полимера / Г.И. Вагапова, Г.А. Гайнанова, Ф.Г. Валеева, А.Р. Ибрагимова, И.В. Галкина, Е.В. Тудрий, Л.Я. Захарова // Всероссийская молодежная конференция "Инновации в химии: достижения и перспективы": Сб. материалов. – Казань. – 2011. – С. 100-101.
10. Вагапова Г.И. Амфифильные фосфониевые соли в качестве каталитической добавки в реакции Сузуки / Г.И. Вагапова, Г.А. Гайнанова, А.Р. Ибрагимова, Ф.Г. Валеева, И.Х. Ризванов, И.В. Галкина, Л.Я. Захарова // XXIII Симпозиум "Современная химическая физика": Сб. тезисов. – Туапсе. – 2011. – С. 80.

11. Вагапова Г.И. Взаимодействие «гость-хозяин» в супрамолекулярной системе на основе амфифильного алкилтрифенилфосфоний бромид / Г.И. Вагапова, Г.А. Гайнанова, Ф.Г. Валеева, И.В. Галкина, Л.Я. Захарова // XI международная конференция "Проблемы сольватации и комплексообразования в растворах": Тез. докл. – Иваново. – 2011. – С. 151.
12. Вагапова Г.И. Нековалентные комплексы на основе солей алкилтрифенилфосфония и гидрофильных полимеров: образование и функциональная активность / Г.И. Вагапова, Г.А. Гайнанова, Ф.Г. Валеева, А.Р. Ибрагимова, И.В. Галкина, Л.Я. Захарова, А.И. Коновалов // III Всероссийская школа-конференция "Макромолекулярные нанообъекты и полимерные наноконпози́ты": Тез. докл. – Москва. – 2011. – С. 54.
13. Вагапова Г.И. Полимер-коллоидный комплекс на основе слабого полиэлектролита и катионного амфифила с фосфониевой головной группой / Г.И. Вагапова, Ф.Г. Валеева, Г.А. Гайнанова, А.Р. Ибрагимова, Э.А. Васильева, И.В. Галкина, Л.Я. Захарова // Первая Всероссийская конференция по жидким кристаллам – Сб. тез. докл. – Иваново. – 2012. – С. 146.
14. Вагапова Г.И. Супрамолекулярные системы ПАВ-полиэлектролит – новые возможности мицеллярного катализа / Г.И. Вагапова, Г.А. Гайнанова, Ф.Г. Валеева, А.Р. Ибрагимова, И.В. Галкина, Л.Я. Захарова, А.И. Коновалов // Международная молодежная конференция «Нано- и супрамолекулярная химия в сорбционных и ионообменных процессах». – Сб. тез. – Казань. – 2012. – С. 28-30.
15. Вагапова Г.И. Катионные ПАВ с различной головной группой как перспективные каталитические добавки в реакции кросс-сочетания Сузуки / Г.И. Вагапова, А.Р. Ибрагимова, Ф.Г. Валеева, И.Х. Ризванов, Л.Я. Захарова, И.В. Галкина // Международная молодежная конференция «Катализ в органическом синтезе». – Сб. тез. и статей. – Новочеркасск. – 2012. – С. 24-26.
16. Вагапова Г.И. Комплексы перспективных фосфониевых ПАВ с полимерами различной природы / Г.И. Вагапова, Г.А. Гайнанова, Ф.Г. Валеева, М.А. Воронин, И.В. Галкина, Л.Я. Захарова // Всероссийская молодежная конференция «Фестиваль науки. Химия поверхности и нанотехнология» – Сб. тез. – Казань. – 2012. – С. 70.

Сонскатель



Г.И. Вагапова

Отпечатано в ООО «Печатный двор».  
г. Казань, ул. Журналистов, 2А, оф.022  
Тел: 295-30-36, 564-77-41, 564-77-51.  
Лицензия ПД №7-0215 от 01.11.2001 г.  
Выдана Поволжским межрегиональным  
территориальным управлением МПТР РФ.  
Подписано в печать 06.05.2013 г. Печ.л. 1,5  
Заказ № К-7265. Тираж 150 экз. Формат 60х84 1/16.  
Бумага офсетная. Печать - ризография.